



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UMAE ESPECIALIDADES "DR. ANTONIO FRAGA MOURET"
CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RAZA"

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

TESIS

CORRELACIÓN ENTRE EL NÚMERO DE INFUSIONES
ERITROCITARIAS CON LA CANTIDAD DE LINFOCITOS B Y
TREG EN PACIENTES HEMATOLÓGICOS CON
ALOANTICUERPOS

PARA OBTENER GRADO DE ESPECIALISTA EN:

HEMATOLOGÍA

PRESENTA:

Dra. Aidé Venegas Rucoba

Dra. Laura Arcelia Montiel Cervantes

Dr. Jorge Vela Ojeda



CIUDAD DE MÉXICO,
FEBRERO 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

HOJA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS

DR. JESÚS ARENAS OSUNA

Jefe de División de Educación en Salud del HE CMN La Raza.

DR. JORGE VELA OJEDA

Profesor Titular del Curso Universitario de Hematología (UNAM)

DRA. AIDÉ VENEGAS RUCOBA

Residente de Cuarto Año de la Especialidad de Hematología

Núm. de registro

R- 2018-3501-011

Correlación entre el número de infusiones eritrocitarias con la cantidad de linfocitos B y Treg en pacientes hematológicos con aloanticuerpos.

| | |
|-----------------------------|----|
| 1. RESUMEN | 1 |
| 2. ANTECEDENTES | 3 |
| 3. MATERIAL Y MÉTODOS | 8 |
| 4. RESULTADOS..... | 10 |
| 5. DISCUSIÓN..... | 15 |
| 6. CONCLUSIONES | 17 |
| 7. BIBLIOGRAFÍA | 18 |

RESUMEN.

Antecedentes. La aloinmunización es una complicación a largo plazo de la transfusión de hemocomponentes, producto de la respuesta inmune adaptativa [1]. Cada una de las poblaciones linfocitarias tiene una función específica en el desarrollo de esta respuesta y la generación de anticuerpos [9]. No todos los pacientes transfundidos desarrollan aloanticuerpos considerando que además de la exposición repetida, se requieren otros factores para su desarrollo [16]. Aunque ha sido poco estudiado se ha reportado en la literatura que pudiera existir una influencia de las diferentes subpoblaciones linfocitarias [24].

Material y Método. Se realizó un estudio observacional, prospectivo, analítico, transversal, comparativo y abierto de pacientes multitransfundidos con patologías hematológicas del HE CMNR mayores de 16 años. Se midieron las subpoblaciones linfocitarias CD19, Treg, CD4, CD3 y CD8. Para el análisis estadístico se utilizaron las pruebas de Kruskal-Wallis, Dunn y Spearman.

Resultados. Se incluyeron 65 pacientes, 36 aloinmunizados y 29 no aloinmunizados, la mediana de infusiones eritrocitarias fue de 6 vs 3 respectivamente. La correlación entre el número de infusiones y cada una de las subpoblaciones linfocitarias fue inversa, con una $p < 0.05$ para los linfocitos CD8reg y CD4 en pacientes no aloinmunizados.

Conclusiones. Al correlacionar la cantidad de infusiones eritrocitarias con las subpoblaciones linfocitarias CD19, CD4, CD3, CD8 y Treg no se encontró una significancia estadística entre los tres grupos. El número de infusiones eritrocitarias no afecta los linfocitos, y estos no son el factor decisivo en la aloinmunización.

Palabras clave: aloinmunización, subpoblaciones linfocitarias, aloanticuerpos, multitransfundidos.

ABSTRACT.

Introduction. Alloimmunization is a long-term complication of the transfusion of blood components, a product of the adaptive immune response [1]. Each of the lymphocyte populations has a specific function in the development of this response and the generation of antibodies [9]. Not all transfused patients develop alloantibodies considering that in addition to repeated exposure, other factors are required for their development [16]. Although it has been little studied, it has been reported in the literature that there may be an influence of the different lymphocyte subpopulations [24].

Material and method. An observational, prospective, analytical, cross-sectional, comparative and open study of multitransfused patients older than 16 years with hematological pathologies in the HE CMNR was performed. The lymphocyte subpopulations CD19, Treg, CD4, CD3 and CD8 were measured. For the statistical analysis the Kruskal-Wallis, Dunn and Spearman tests were used.

Results. We included 65 patients, 36 alloimmunized and 29 non-alloimmunized, the median of erythrocyte infusions was 6 vs 3 respectively. The correlation between the number of infusions and each of the lymphocyte subpopulations was inverse, with $p < 0.05$ for CD8reg and CD4 lymphocytes in non-alloimmunized patients.

Conclusions. When correlating the number of erythrocyte infusions with the lymphocyte subpopulations CD19, CD4, CD3, CD8 and Treg, no statistical significance was found among the three groups. The number of erythrocyte infusions does not affect lymphocytes, and these are not the decisive factor in alloimmunization.

Key words: alloimmunization, lymphocyte subpopulations, alloantibodies, multitransfused.

ANTECEDENTES

La aloinmunización es una de las mayores complicaciones a largo plazo de la transfusión de hemoderivados. Específicamente la aloinmunización contra antígenos eritrocitarios distintos del ABO afecta entre el 8 y 12% de los receptores, sin embargo esta incidencia aumenta de forma importante en los pacientes multi transfundidos y con patologías dependientes de transfusión, situación que es especialmente frecuente en pacientes hematológicos, ya sea por la fisiopatología propia de la enfermedad o por el uso de terapias mielosupresoras, entre ellos por ejemplo en los pacientes con leucemias, linfomas, anemia de células falciformes, talasemias, anemia aplásica, síndromes mielodisplásicos y otras anemias crónicas[1]. La incidencia en estos grupos de pacientes se ha reportado en un rango muy amplio dependiendo de la zona, desde un 8 hasta un 76%. [2]

La aloinmunización consiste en la inducción de la inmunidad en respuesta a un antígeno expresado en células y tejidos de un individuo genéticamente diferente de la misma especie. En este caso los antígenos eritrocitarios pueden ser inmunogénicos en individuos que no presentan el mismo antígeno en sus propios eritrocitos. [4]

Esta exposición resulta en una activación de la respuesta inmune con la respectiva producción de anticuerpos que puede llegar a causar una reacción hemolítica grave. [15]

Rutinariamente las transfusiones de concentrados eritrocitarios se realizan únicamente con la determinación del fenotipo ABO y RhD del receptor, sin embargo existen otros antígenos que también están frecuentemente involucrados en la aloinmunización aparte de los antígenos ABO, los más frecuentes y clínicamente importantes son los sistemas Rhesus, Kell, Kidd, Duffy y Lewis; pero existe un total de 35 sistemas con 339 antígenos que potencialmente pueden inducir la formación de anticuerpos en los receptores. [14]

La generación de estos anticuerpos puede ocasionar hemólisis clínicamente significativa que incluso pudiera desencadenar falla orgánica múltiple, alteraciones electrolíticas, coagulopatía y en algunos casos la muerte. [8] Además de estas

reacciones transfusionales, una repercusión importante es la dificultad posterior para encontrar concentrados eritrocitarios compatibles, una disminución en la supervivencia media de los eritrocitos y por lo tanto aumento en los requerimientos transfusionales, que a su vez aumenta más la exposición a los antígenos no propios, convirtiéndose en un ciclo. [10]

Los antígenos de grupo sanguíneo son moléculas de superficie con estructura variadas. Pueden ser proteínas, polisacáridos, glicoproteínas, glucolípidos y lipoproteínas. [7]

La respuesta inmune adaptativa reacciona a los antígenos no propios. El primer paso en el establecimiento de esta respuesta es por lo tanto, el reconocimiento de los fragmentos peptídicos presentados por las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II en las células presentadoras de antígenos. [9]

Cuando un antígeno no propio es detectado por el sistema inmune, ocurren por lo menos dos eventos simultáneos. Primero las células presentadoras de antígenos están constantemente censando el microambiente a través de la fagocitosis y son capaces de influenciar tanto la especificidad como la magnitud de la respuesta inmune (12). Una vez que un antígeno es fagocitado por una CPA las proteínas se escinden en péptidos que se insertan en los sitios de unión de las moléculas del complejo mayor de Histocompatibilidad de clase II y son presentados en la superficie de la célula. Segundo, las células B reconocen el antígeno a través del Receptor de Células B (BCR) el cual es una inmunoglobulina unida a la membrana y puede entonces convertirse en una célula plasmática secretora de anticuerpos [13].

Los linfocitos B procesan el antígeno y lo presentan a su vez como péptidos dentro de las moléculas del MHC II [12].

Las células T CD4+ poseen también un receptor recombinante (TCR) que sufre diversos arreglos génicos resultando en múltiples TCRs con una especificidad diferente para cada célula T naive [19]. El TCR en las células CD4+ reconoce complejos de péptidos presentados en las moléculas del MHCII, lo cual desencadena una cascada de señalización conocida como señal 1 y que es necesaria para la completa diferenciación de las células T en células T

cooperadoras, sin embargo esta señal no es suficiente para activar los linfocitos T CD4 si no que requiere una serie adicional de señales activadas por el acoplamiento de otros pares de ligandos y receptores expresados en las CPA y los propios linfocitos T, llamadas en conjunto señal 2. Esta señal 2 acaba por diferenciar al linfocitos en una célula cooperadora capaz de ayudar a las células B o de iniciar señales en las células T para diferenciarse en células de fenotipo no cooperadores, tales como las células Treg, las células T anérgicas, o incluso llevarlas a la apoptosis. Además las citosinas y otros factores reguladores pueden también participar en la activación y diferenciación de los linfocitos T, esta es la llamada señal 3 [23]. En ocasiones la presencia de estados inflamatorios agregados en el receptor al momento de la transfusión puede influir en una mayor activación de la respuesta inmune y por tanto mayor susceptibilidad al desarrollo de anticuerpos. [3]

Se ha visto que la aloinmunización es más común en algunas situaciones clínicas específicas y en algunas poblaciones de pacientes. Existen individuos que a pesar de las repetidas exposiciones a los antígenos de grupo sanguíneo no propios, no desarrollan aloanticuerpos, a los cuales se les denomina No respondedores, en contraste con los que si los desarrollan que son llamados respondedores [17].

Esto ha llevado a pensar que la simple exposición repetida a los antígenos no es suficiente para determinar la aloinmunización, y que en cambio deben existir diferencias inmunológicas entre cada paciente que determinara si se comportan como respondedores o como No respondedores [16].

En modelos murinos, los linfocitos T juegan un papel muy importante en el desarrollo de la aloinmunización. Entre estos, los linfocitos T CD4 son los que mayormente contribuyen. Los linfocitos T pueden diferenciarse en subpoblaciones especializadas, tales como Th1, Th2, Th17, Th9, Th22 y T reguladoras, que expresaran diferentes patrones de citosinas para una respuesta inmunológica específica [24].

En un estudio en ratones, Jin Yu y cols. Comprobaron que las células T reguladoras (CD4+CD25+) son indispensables en la regulación de la respuesta aloimmune al exponer a antígenos eritrocitarios no propios a ratones manipulados

genéticamente para ser deficientes en esta subpoblación linfocitaria y controles con Treg normales, encontraron que los ratones que presentaban Treg normales presentaban una menor generación de anticuerpos que se mantenía incluso por 5 semanas después de la exposición. Esta inmunoregulación se lleva a cabo a través de efectos mediados por citosinas que pueden incluir IL-10 y TGF- β . El contacto con las células presentadoras de antígenos establecerá la pauta para que las células Treg alteren directa o indirectamente la activación y diferenciación de células T patogénicas. Por lo que al parecer tanto el tipo de células presentadoras de antígenos como la inmunogenicidad del antígeno son los mayores determinantes del fenotipo de expresión de citosinas en las células T reguladoras [2].

Se trata de un tema poco estudiado en general, algunas de las mayores investigaciones se han realizado en pacientes con hemoglobinopatías.

En un estudio de Benoît Vingert et al., en pacientes con anemia de células falciformes multitransfundidos se encontró un aumento de las concentraciones de IL-10 en los pacientes no aloinmunizados, mientras que IFN gamma se encontró únicamente presente en pacientes aloinmunizados [1]. Lo cual representa que efectivamente debe existir una polarización de las subpoblaciones de linfocitos T que determina la generación o no de anticuerpos.

Se ha visto también que algunas subpoblaciones de linfocitos B (CD19+, CD24+, CD27+, CD86+) que han sido llamados linfocitos B reguladores, son capaces por ejemplo de suprimir la proliferación de los linfocitos T CD4+ [6]. La IL-10 producida por los linfocitos B activados puede inhibir a la IL-6 e IL-12 producida por células dendríticas y por lo tanto disminuir la respuesta Th1 y Th17 evitando así el desarrollo de aloinmunización [5].

Se encontró también en este estudio que el porcentaje de células T CD4+ es menor en pacientes no aloinmunizados que en pacientes aloinmunizados (32.7 +/- 7.0% vs 24 +/- 9.9%). Dentro de la subpoblación de linfocitos CD4+, además se vio

que la expresión de CD40 tiende a ser más alta en los pacientes aloinmunizados que en los no aloinmunizados (0.1 vs 0.2% respectivamente) [1].

En este estudio fue también evaluado el porcentaje de células T CD8 (definido como linfocitos CD3+, CD4-), encontrándose que en este caso, a diferencia de los CD4, el porcentaje de CD8 del total de linfocitos se encuentra en proporción igual entre los pacientes con y sin desarrollo de anticuerpos [1].

Dada esta importancia que se ha visto de las células T en la inmunomodulación, especialmente en las enfermedades con producción de anticuerpos, es posible que los linfocitos T puedan desarrollar fenotipos diferentes, con funciones diferentes dependiendo si se trata de un paciente respondedor o de un no respondedor en cuanto a la generación de anticuerpos antieritrocitarios [24].

MATERIAL Y METODO

Se realizó un estudio observacional, prospectivo, analítico, transversal, comparativo y abierto en pacientes mayores de 16 años con cualquier patología hematológica y antecedente de transfusiones múltiples de concentrados eritrocitarios que fueron atendidos en el laboratorio de hematología especial del Hospital de Especialidades del Centro médico nacional La Raza del 15 de Enero al 15 de Febrero 2018.

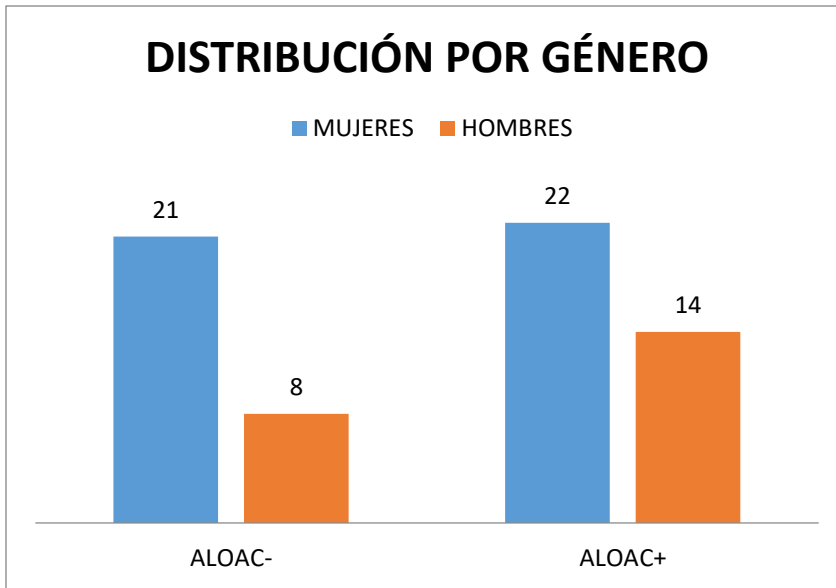
El objetivo del estudio fue analizar la correlación entre el número de infusiones eritrocitarias con la cantidad de linfocitos B y Treg en pacientes hematológicos con aloanticuerpos. Además se cuantificó las subpoblaciones linfocitarias en pacientes hematológicos aloinmunizados y no aloinmunizados pareados por edad, género y patología y se compararon con controles sanos del Banco central de sangre.

Selección de pacientes. Se incluyeron pacientes mayores de 16 años con síndrome mielodisplásico, leucemia mieloide crónica, leucemias agudas, mieloma múltiple y purpuras que fueron atendidos en el laboratorio de Hematología Especial del CMN La Raza. Se excluyeron pacientes menores de 16 años, con expediente incompleto. Pacientes que no han sido transfundidos, o cuyo diagnóstico no es una patología hematológica. Se eliminaron los pacientes cuyas muestras fueron insuficientes para las determinaciones necesarias.

Recolección de datos. Se recabaron los expedientes de los pacientes del departamento de Hematología del HE CMNR. Posteriormente, se tomaron aquellos que tuvieran antecedente de múltiples transfusiones de concentrados eritrocitarios, se seleccionó aquellos que tuvieran aloanticuerpos positivos y se buscaron pacientes sin aloanticuerpos pareados por edad, género y patología. Se compararon con controles sanos del banco central de sangre pareados por edad y género. Finalmente, se organizaron los resultados en la hoja de recolección de datos.

Análisis estadístico. Se realizó un análisis de la información utilizando medidas de tendencia central y dispersión. Se evaluó la correlación entre el número de infusiones eritrocitarias y cada una de las subpoblaciones linfocitarias con la prueba de Spearman. La comparación entre las subpoblaciones linfocitarias en los diferentes grupos se realizó mediante la prueba de Kruskal-Wallis. Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el programa SPSS versión 21 considerando una $p < 0.05$ como significativo.

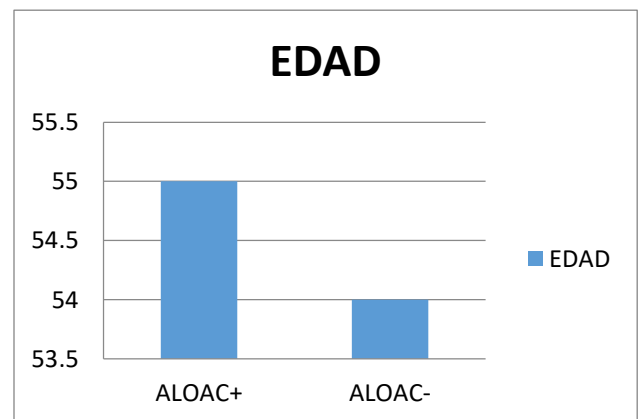
RESULTADOS.

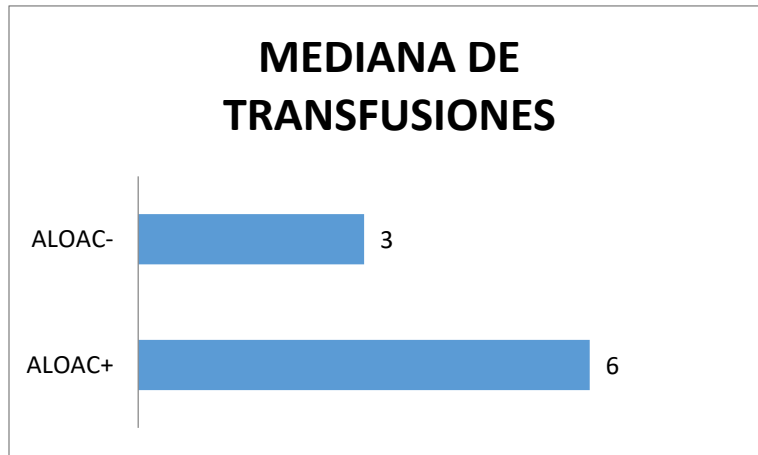


En cuanto a la distribución por género, hubo un predominio del género femenino tanto en el grupo de pacientes aloinmunizados como en el grupo de pacientes no

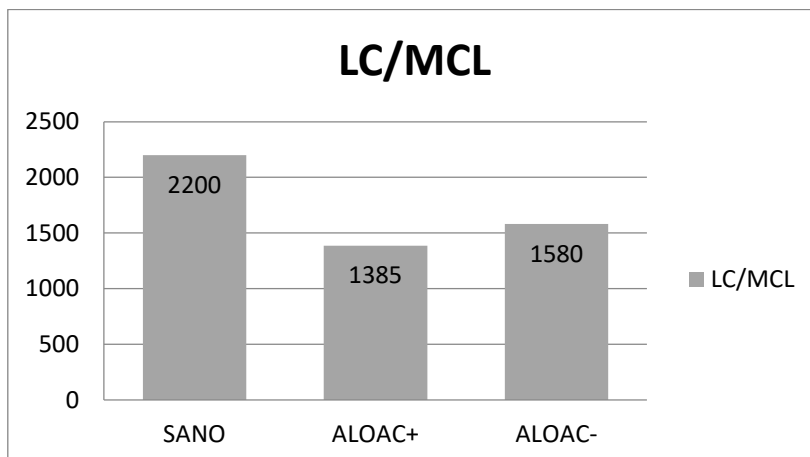
aloinmunizados, teniendo un total de 21 mujeres y 8 hombres en el grupo sin aloanticuerpos y un total de 22 mujeres y 14 hombres en el grupo sin aloanticuerpos.

En el grupo de pacientes con aloanticuerpos la mediana de edad fue de 55 años, mientras que en los no aloinmunizados fue de 54, con respecto al número de concentrados eritrocitarios transfundidos en el grupo de aloinmunizados la mediana fue de 6 mientras que en el de no aloinmunizados fue de 3.





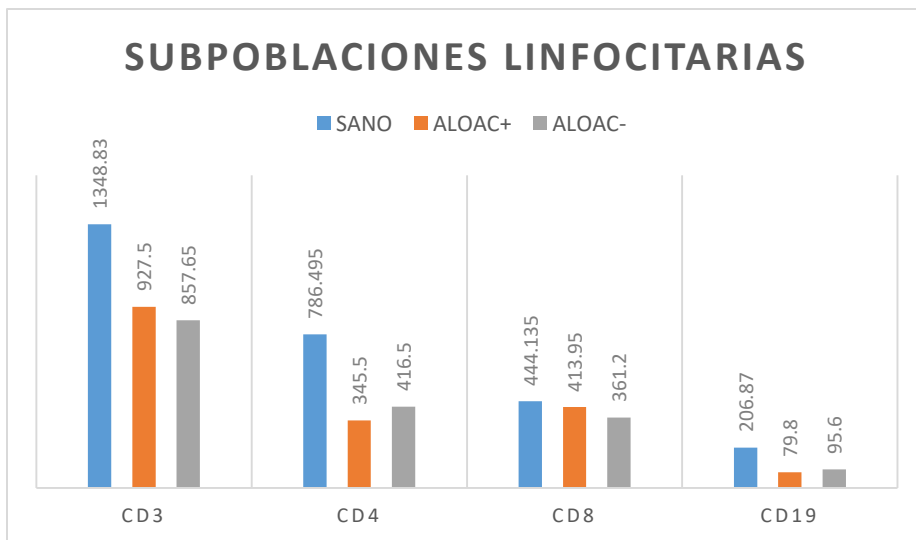
Se realizó la determinación de linfocitos por micro litro en pacientes con enfermedades hematológicas que presentaron aloanticuerpos posteriores a transfusión vs los que no los tuvieron y se compararon con controles sanos. Se encontró que en el grupo con aloanticuerpos positivos la mediana fue de 1580/micro litro mientras que en el grupo que sin aloanticuerpos fue de 1385/micro litro. En los donadores sanos la mediana fue de 2200/micro litro. Se aplicó la prueba estadística de Kruskal-Wallis encontrándose un valor de $H = 21.849$ con 2 grados de libertad. La diferencia en las medianas entre los tres grupos fueron mayores a lo esperado con una diferencia estadísticamente significativa con una $p < 0.001$.



Se midieron los niveles de linfocitos CD3 por micro litro entre los tres grupos encontrándose una mediana de 1348.83 CD3/micro litro en el grupo de los sanos, 927.5 CD3/micro litro en los pacientes que no desarrollaron aloanticuerpos y de 857.65 CD3/micro litro en los pacientes que si desarrollaron aloanticuerpos.

Al realizar la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis se reportó una p menor a 0.001 con lo cual encontramos diferencia estadísticamente significativa.

Al realizar la comparación entre los donadores sanos con los pacientes que desarrollaron aloanticuerpos la diferencia entre los linfocitos CD3 fue estadísticamente significativa, al igual que la diferencia entre los donadores sanos y los pacientes que no desarrollaron los aloanticuerpos, sin embargo al hacer la comparación entre los dos grupos de pacientes los inmunizados y los no inmunizados nos encontramos que la diferencia no es estadísticamente significativa, lo cual sugiere que la subpoblación de linfocitos CD3 no juega un papel importante en el desarrollo de aloanticuerpos eritrocitarios.



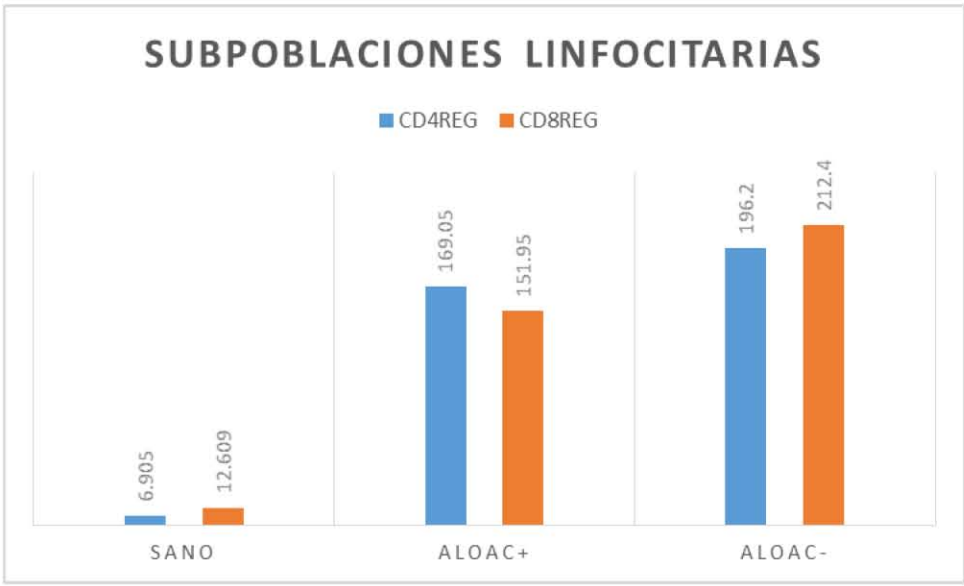
Se analizó también los linfocitos CD8 en los cuales se encontró una mediana de 444.135 en el grupo de donadores sanos, de 361.2 en el grupo de pacientes No aloinmunizados, y de

413.95 en el grupo de paciente aloinmunizados, con una p calculada por Kruskal-Wallis de 0.189 la cual no es estadísticamente significativa, indicándonos que la población CD8 no se altera en los pacientes hematológicos ni esta implicada en el desarrollo de aloanticuerpos.

En el análisis de los linfocitos B CD19+ se encontró una mediana de 206.87 para el grupo de donadores sanos, de 79.8 para el grupo de pacientes con aloanticuerpos, y de 95.6 para el grupo de pacientes sin aloanticuerpos, aplicando el método de Kruskal Wallis se encuentra un valor de H de 24.445 con 2 grados de libertad, con una p menor de 0.001 que es estadísticamente significativa. Al comparar los grupos con método de Dunn se encuentra una diferencia significativa entre los donadores sanos y los pacientes con aloanticuerpos positivos y entre los donadores sanos y los pacientes sin aloanticuerpos, pero no entre los pacientes con aloanticuerpos positivos y los pacientes con aloanticuerpos negativos, por lo que al igual que los linfocitos CD3 no representarían un papel significativo en el desarrollo de aloanticuerpos.

Con respecto a los CD4 en el grupo de controles sanos se encontró una mediana de 786.495 CD4/micro litro, en el grupo de pacientes sin aloanticuerpos la mediana fue de 416.5 CD4/micro litro, y en el de pacientes con aloanticuerpos de 345.5 CD4/micro litro, con una p menor a 0.001, encontrándose una diferencia estadísticamente significativa. Y en la comparación entre grupos se encuentra que tanto entre los donadores sanos y los pacientes con aloanticuerpos, entre los donadores sanos y los pacientes sin aloanticuerpos, como entre los pacientes con y sin aloanticuerpos la diferencia es estadísticamente significativa por el método de Dunn, lo cual puede implicar que los linfocitos CD4 si tienen una influencia en el desarrollo o no de aloanticuerpos en pacientes transfundidos.

Se analizó también la subpoblación de linfocitos T CD4+ reguladores en los que se encontró una mediana de 6.905 en personas sanas, de 196.2 en pacientes no inmunizados y de 169.05 en pacientes inmunizados, con una $p < 0.001$ que se considera estadísticamente significativa. Sin embargo al comparar entre grupos hay significancia entre los donadores sanos y los pacientes aloinmunizados, entre los donadores sanos y los pacientes no aloinmunizados, pero no entre los pacientes inmunizados y no inmunizados. Por lo que aunque representarían un punto importante en la patología hematológica en general, no influye como tal en la capacidad de desarrollar o no aloanticuerpos pos transfusión.



En cuanto a los linfocitos CD8 reguladores se encontró una mediana de 12.609 para los donadores sanos, de 212.400 para los pacientes sin aloanticuerpos y de 151.95 para los pacientes con

aloanticuerpos, con una valor para H de 40.837 con 2 grados de libertad, que nos dan una p estadísticamente significativa menor a 0.001. Al analizar la diferencia entre el grupo de donadores sanos y los pacientes no inmunizados y los donadores sanos y los pacientes si inmunizados se encuentra una diferencia significativa, pero es la diferencia entre los pacientes inmunizados y no inmunizados la diferencia no es significativa.

Se realizó análisis de la correlación entre la cantidad de concentrados eritrocitarios y cada una de las subpoblaciones linfocitarias en estudio por el método de Spearman, en la cual observamos que en el caso de los pacientes que no desarrollaron aloanticuerpos la p es mayor de 0.05 para los CD4reg, CD3, CD8 y CD19; y menor para los CD8 reg y CD4. Y en el caso de los que si desarrollaron aloanticuerpos es Mayor para la cuenta total de linfocitos y las subpoblaciones CD4reg, CD8reg, CD19, CD8, CD4, CD3. Por lo que la única correlación estadísticamente significativa es la de los CD8reg y CD4 en los pacientes sin presencia de aloanticuerpos.

DISCUSIÓN

La aloinmunización es un proceso inmunológico que resulta de la exposición a antígenos no propios [1]; que para el caso de los antígenos eritrocitarios se da mayoritariamente a través de las transfusiones sanguíneas múltiples, las cuales son altamente frecuentes en los pacientes hematológicos ya sea por la naturaleza de la patología o por las complicaciones de los tratamientos [3]. Es conocido que a mayor número de infusiones eritrocitarias aumenta la probabilidad de que los pacientes desarrollen aloanticuerpos [7], sin embargo se ha visto que no todos los pacientes expuestos a múltiples transfusiones los presentan, lo cual nos lleva a pensar que deben existir otros mecanismos aparte de la simple exposición que influyen en la respuesta inmune de cada individuo [17]. Los factores que marcan esta diferencia no han sido aún determinados con certeza. Existen en la literatura diferentes estudios, principalmente en pacientes con hemoglobinopatías, en los que se ha sugerido que la cuenta de linfocitos en general y de las diferentes subpoblaciones en particular, podrían desempeñar un papel primordial en el desarrollo o no de la aloinmunización [9].

Dada la repercusión clínica de la aloinmunización en los pacientes hematológicos principalmente por las potenciales reacciones transfusionales hemolíticas que puede presentar un paciente que ya está inmunizado, así como por la dificultad en encontrar concentrados eritrocitarios compatibles para estos, es de vital importancia conocer a fondo el mecanismo exacto y los factores involucrados en el hecho de que un paciente sea o no respondedor, ya que en un futuro esto nos podría permitir desarrollar estrategias para evitar y solucionar esta complicación.

Este trabajo se realizó con la intención de determinar si en nuestra población de pacientes hematológicos multitransfundidos, efectivamente había una diferencia en cuanto a las diferentes subpoblaciones linfocitarias que correlacionara con el número de infusiones eritrocitarias recibidas por cada paciente, y con la presencia o no de aloanticuerpos.

Se inició el presente estudio proponiendo la hipótesis de que a mayor número de infusiones eritrocitarias mayor era la cantidad de linfocitos B y Treg en pacientes hematológicos con presencia de aloanticuerpos.

Al analizar los resultados encontramos que entre los pacientes hematológicos de nuestro centro encontramos que la mediana de infusiones eritrocitarias en los pacientes con aloanticuerpos positivos fue de 6, mientras que en los pacientes con aloanticuerpos negativos fue de 3, lo cual concuerda con lo ya conocido en la literatura de que una mayor cantidad de infusiones condiciona una mayor aloinmunización.

Los grupos analizados fueron homogéneos en cuanto a la edad, pero en cuanto al sexo, en ambos predominó el femenino. De los pacientes aloinmunizados, en 11 pacientes no se determinó la especificidad del aloanticuerpo por razones técnicas. De los que sí se conoce la especificidad, el antígeno más frecuentemente involucrado fue el antígeno e, seguido del Diego A, y en compartiendo el tercer lugar en frecuencia el S, Hi y K1.

En el análisis estadístico de las subpoblaciones linfocitarias encontramos que en general sí existe una diferencia significativa entre la cantidad de linfocitos totales, de linfocitos CD3, CD8, CD4, Treg y CD19 entre los donadores sanos y los pacientes en general, con y sin aloanticuerpos, pero esta diferencia no tiene significancia al hacer la comparación entre los pacientes con aloanticuerpos positivos y los pacientes con aloanticuerpos negativos, lo cual nos sugiere que las diferentes subpoblaciones linfocitarias, aunque sí tienen un papel importante en la patología hematológica en general, no correlaciona con la presencia de aloanticuerpos, y por lo tanto no son el factor decisivo en la aloinmunización.

Se encontró también que el número de infusiones eritrocitarias correlaciona de forma inversa con cada una de las subpoblaciones linfocitarias analizadas, sin embargo esta correlación solo tuvo significancia estadística en las poblaciones de CD8reg y CD4 con los pacientes sin aloanticuerpos, lo cual aunque descarta nuestra hipótesis inicial, nos podría indicar que el descenso inverso al número de infusiones eritrocitarias de estas dos subpoblaciones sí podrían tener un efecto protector en la aloinmunización contra antígenos eritrocitarios.

CONCLUSIÓN.

En la comparación de la cifra absoluta de linfocitos CD3, CD4, CD8, CD8reg, CD4reg, CD19 entre donadores sanos, pacientes con aloanticuerpos y pacientes sin aloanticuerpos la diferencia no es significativa entre aloinmunizados y no aloinmunizados, únicamente entre sanos y pacientes en general. Así mismo al comparar el número de infusiones eritrocitarias con las subpoblaciones de linfocitos CD3, CD4, CD8, CD8reg, CD4reg, CD19 la correlación es inversa, por lo que a mayor número de infusiones menor será la cantidad de cada una de las poblaciones, sin embargo esta correlación solo es estadísticamente significativa para las subpoblaciones de CD8reg y CD4 en los pacientes sin aloanticuerpos. Con lo cual se rechaza la hipótesis, concluyendo que el número de infusiones eritrocitarias no afecta los linfocitos, y estos no son el factor decisivo en la aloinmunización. Se requiere de más estudios para poder identificar si efectivamente pudiera existir en los pacientes no respondedores una disminución protectora de los linfocitos CD8reg y CD4.

BIBLIOGRAFIA:

1. Benoît Vingert, Marie Tamagne, Anoosha Habibi. Phenotypic differences of CD4+ T cells in response to red blood cell immunization in transfused sickle cell disease patients. *Eur. J. Immunol.* 2015. 45: 1868–1879.
2. Jin Yu¹, Susanne Heck, and Karina Yazdanbakhsh. Prevention of red cell alloimmunization by CD25 regulatory T cells in mouse models. *Am J Hematol.* 2007 August; 82(8): 691–696. doi:10.1002/ajh.20959.
3. James C. Zimring and Krystalyn E. Hudson. Cellular immune responses in red blood cell alloimmunization. *American Society of Hematology.* 2016.
4. Vitor Mendonça Alves, Paulo Roberto Juliano Martins, Sheila Soares. Alloimmunization screening after transfusion of red blood cells in a prospective study. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2012;34(3):206-11.
5. Christopher R Gilson and James C Zimring. Alloimmunization to transfused platelets requires priming of CD4+ T cells in the splenic microenvironment in a murine model. *Transfusion.* 2012 April; 52(4): 849–859.
6. Hui Zhong PhD, Weili Bao MS, David Friedman MD and Karina Yazdanbakhsh PhD. Hemin controls T cell polarization in sickle cell alloimmunization. *J Immunol.* 2014 July 1; 193(1): 102–110.
7. Saurabh Zalpuri, Jaap Jan Zwaginga, J. G. van der Bom. Risk Factors for Alloimmunisation after red blood Cell Transfusions (R-FACT): a case cohort study. *BMJ Open* 2012;2:e001150.
8. Donald R Branch. Solving the dilemma of prevention of red cell alloimmunization. *Immunotherapy* (2012) 4(9), 903–905.

9. Weili Bao, Hui Zhong, Xiaojuan Li. Immune regulation in chronically transfused allo-antibody responder and nonresponder patients with sickle cell disease and β -thalassemia major. *Am J Hematol.* 2011 December; 86(12): 1001–1006.
10. Neil Blumberg, Kathy Peck, Karen Ross. Immune Response to Chronic Red Blood Cell Transfusion. *Vox Sang.* 44: 212-217.
11. Jeanne E. Hendrickson, Maxime Desmarests, Seema S. Deshpande. Recipient inflammation affects the frequency and magnitude of immunization to transfused red blood cells. *TRANSFUSION* Volume 46, September 2006.
12. Andrew M. Hall, Lindsay S. Cairns, Daniel M. Altmann. Immune responses and tolerance to the RhD blood group protein in HLA transgenic mice. *Blood Journal*, prepublished online September 21, 2004.
13. Novaretti MC. Investigação laboratorial em pacientes com anticorpos eritrocitários. In: Bordin JO, Langhi Júnior DM, Covas DT. *Hemoterapia: fundamentos e prática.* São Paulo: Atheneu; 2007. p 186-89
14. Lee CK, Ma ES, Tang M, Lam CC, Lin CK, Chan LC. Prevalence and specificity of clinically significant red cell alloantibodies in Chinese women during pregnancy – a review of cases from 1997 to 2001. *Transfus Med.* 2003;13(4):227-31.
15. Thakral B, Saluja K, Sharma RR, Marwaha N. Red cell alloimmunization in a transfused patient population: a study from a tertiary care hospital in north India. *Hematology.* 2008;13(5):313-8.

16. Schonewille H, van de Watering LM, Loomans DS, Brand A. Red blood cell alloantibodies after transfusion: factors influencing incidence and specificity. *Transfusion*. 2006;46(2):250-6.
17. Natukunda B, Schonewille H, Van de Watering L, Brand A. Prevalence and specificities of red blood cell alloantibodies in transfused Ugandans with different diseases. *Vox Sang*. 2010;98(2):167-71.
18. Kapp JA, Honjo K, Kapp LM, Goldsmith K, Bucy RP. Antigen, in the presence of TGF-beta, induces up-regulation of FoxP3^{gfp+} in CD4⁺ TCR transgenic T cells that mediate linked suppression of CD8⁺ T cell responses. *J Immunol*. 2007; 179:2105–14. [PubMed: 17675469].
19. Honjo K, Xu XY, Bucy RP. Heterogeneity of T cell clones specific for a single indirect alloantigenic epitope (I-Ab/H-2Kd54-68) that mediate transplant rejection. *Transplantation*. 2000; 70:1516–24. [PubMed: 11118099].
20. Yazdanbakhsh K, Ware RE, Noizat-Pirenne F. Red blood cell alloimmunization in sickle cell disease: pathophysiology, risk factors, and transfusion management. *Blood*. 2012; 120:528–537. [PubMed: 22563085].
21. Chou ST, Jackson T, Vege S, Smith-Whitley K, Friedman DF, Westhoff CM. High prevalence of red blood cell alloimmunization in sickle cell disease despite transfusion from Rh-matched minority donors. *Blood*. 2013; 122:1062–1071. [PubMed: 23723452].
22. Zalpuri S, Zwaginga J, Cessie S, et al. Red-blood-cell alloimmunization and number of red-blood-cell transfusions. *Vox Sang* 2012;102:144e9.

23. Stephen J, Cairns LS, Pickford WJ, Vickers MA, Urbaniak SJ, Barker RN. Identification, immunomodulatory activity and immunogenicity of the major helper T cell epitope on the K blood group antigen. *Blood* 119(23), 5563–5574 (2012).
24. Hudson KE, Lin E, Hendrickson JE, Lukacher AE, Zimring JC. Regulation of primary alloantibody response through antecedent exposure to a microbial T-cell epitope. *Blood* 115(19), 3989–3996 (2010).
25. Bao W, Yu J, Heck S, Yazdanbakhsh K. Regulatory T-cell status in red cell alloimmunized responder and nonresponder mice. *Blood*. 2009; 113:5624–5627. [PubMed: 19336757].
26. Zimring JC, Hair G, Chadwick TE, et al. Non-hemolytic antibody-induced loss erythrocyte surface antigen. *Blood* 2005;106:1105-12.